

Волошина И.С. МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И СЕМЕННЫХ ПУЗЫРЬКОВ КРЫС ПОСЛЕ ИНГАЛЯЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ ТОЛУОЛА И КОРРЕКЦИИ ВЫЯВЛЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ

Резюме. В представленной работе приведены данные об изменениях органометрических показателей предстательной железы и семенных пузырьков половозрелых крыс, которые в эксперименте подвергались ингаляционному воздействию толуола. В ходе исследования были использованы 90 белых беспородных крыс-самцов в возрасте 12-недель и начальной массой 130-150 г. Животные были разделены на контрольную (интактные крысы) и экспериментальные серии (II та II-ТЗ). Серия II –крысы, которые находились в условиях воздействия толуола в концентрации 500 мг/м³. Серия II-ТЗ – животные, которые на фоне воздействия толуола получали корректор тиотриазолин в дозе 117 мг/кг внутривнутрибрюшинно. Установлено, что в условиях действия на организм указанного химического агента отмечается снижение массы предстательной железы и линейных размеров семенных пузырьков. Причем значительная разница при сравнении с данными интактных крыс наблюдается через 1, 7 и 15 суток после прекращения действия толуола. Использование тиотриазолина оказывает позитивный эффект, которые выражается в уменьшении разницы между показателями контрольной и II экспериментальной серий.

Ключевые слова: предстательная железа, семенные пузырьки, толуол, тиотриазолин, крыса

Voloshina I.S. MORPHOMETRIC PARAMETERS OF PROSTATE AND SEMINAL VESICLES OF RATS AFTER INHALATION EXPOSURE TO TOLUENE IN BODY AND CORRECTION IDENTIFIED CHANGES

Summary. In the present study presents data on changes organometric performance of the prostate and seminal vesicles of mature rats subjected to inhalation of toluene. The study used 90 white mongrel male rats aged 12 weeks and the initial mass of 130-150. Animals were divided into control (intact rats) and experimental series (II is the II-TZ). Series II - the rats were under the effect of toluene at a concentration of 500 mg/m³. Series II-TZ - animals that are on the background effects of toluene received thiotriazolin in a dose of 117 mg / kg intraperitoneally. It was established that under the action on the body of this chemical agent indicated a significant reduction in weight of prostate and linear size of seminal vesicles. Moreover, a significant difference when compared with those of intact rats observed after 1. 7 and 15 days after the termination of toluene. Using thiotriazoline has a positive effect, which is expressed by a decrease in the difference between the controls and experimental series II.

Keywords: prostate, seminal vesicles, toluene, thiotriazoline, rat

Рецензет: проф. Смирнов С.М.

УДК 616.379.-008.64-06 : 616.831-005.4]:616.61

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ПРОТЕО- ТА ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ В МІОКАРДІ ЩУРІВ ЗІ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНИМ ДІАБЕТОМ, УСКЛАДНЕНИМ НЕПОВНОЮ ГЛОБАЛЬНОЮ ІШЕМІЄЮ-РЕПЕРФУЗІЄЮ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Гавалешко В.П.

Кафедра фізіології ім. Я.Д. Кіршенблата, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

Резюме. Досліджено ранні та відстрочені ефекти ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку на показники фібрино- і протеолітичної активності в міокарді щурів з експериментальним цукровим діабетом. Встановлено, що в щурів контрольної групи ішемія головного мозку пригнічує тканинну протео- та фібринолітичну активність в міокарді після односторонньої реперфузії і активує її на 12-ту добу спостереження. Цукровий діабет суттєво обмежує реакцію тканинної протео- та фібринолітичної активності на ішемічно-реперфузійне ушкодження головного мозку, особливо в пізній термін спостереження.

Ключові слова: цукровий діабет, ішемія-реперфузія головного мозку, фібриноліз, протеоліз, міокард

Вступ. За даними різних авторів поширеність серцево-судинної патології серед хворих на цукровий діабет (ЦД) складає від 50 до 90-100% [9, 11, 13, 15, 17]. Діабетична кардіоміопатія, поряд з ішемічною хворобою серця, є важливою складовою даної патології [5, 16]. Провідним чинником пошкодження серцевого м'яза при ЦД вважається хронічна гіперглікемія, кардіотоксичні ефекти якої пов'язані зі зростанням глікозилювання і оксидації білків, залучених в обмін ліпідів, функціонування системи згортання крові і судинного гомеостазу [7, 10, 16]. Важливим чинником ризику судинних катастроф у хворих на ЦД є підвищення протромбогенного потенціалу крові за

рахунок активації тромбоцитарного та плазматичного гемостазу і пригнічення фібринолізу [7, 10]. Встановлено, що у крові хворих на ЦД високий рівень фібриногену і порушення в системі фібринолізу зустрічаються набагато частіше. Однак показники тканинного фібринолізу за умов ЦД залишаються недослідженими. Гіперглікемія також посилює продукцію просклеротичних цитокінів і порушує характер взаємовідносин у системі протеази/антипротеази, унаслідок чого розвивається фіброз, головним чином, екстрацелюлярного матриксу [3, 4, 6, 8, 14]. У міокарді при ЦД виникають дистрофічні зміни, інтерстиційний кардіосклероз і порушення діяльності клітинних орга-

нел, що контролюють транспорт іонів, особливо іонів Ca²⁺ + [12, 15, 16]. Однак механізми пошкодження серця, нирок, селезінки та інших внутрішніх органів у хворих на ЦД до теперішнього часу залишаються недостатньо дослідженими. Особливо мало як клінічних, так й експериментальних наукових доробок, присвячених вивченню тканинних протео- та фібринолітичних систем при ускладненні ЦД гострими порушеннями церебрального кровообігу. Вищезазначене визначило мету нашого дослідження – вивчення динаміки показників тканинної протео- та фібринолітичної активності в щурів з ускладненням ЦД ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку.

Матеріали та методи дослідження. Для відтворення ЦД типу 1 білим нелінійним лабораторним самцям щурів віком два місяці однократно внутрішньочеревно вводили стрептозоточин (Sigma, США, 60 мг на 1 кг маси тіла) [4]. Через чотири місяці в частини щурів контрольної (без діабету) та дослідної (з наявністю діабету) груп здійснювали двобічне кліпсування загальних сонних артерій протягом 20 хв із наступною реперфузією [1]. Для вивчення ранніх та відстрочених змін досліджуваних показників міокард лівого шлуночка забирали через одну год та 12 діб від початку реперфузії. Рівень глікемії визначали глюкозооксидазним методом. У дослід брали тварин із рівнем глікемії вище 10 ммоль/л.

Контрольні визначення проводили в тканині міокарда несправжньооперованих щурів без порушення вуглеводного обміну та з цукровим діабетом. У гомогенатах лівого шлуночка визначали показники тканинної фібрино- та протеолітичної активності [2] за допомогою реактивів Simko Ltd, Україна.

Евтаназію тварин виконували декапітацією під наркозом.

Результати досліджень опрацьовано за допомогою пакета прикладних програм “Statistica (“Statsoft”, США). За тестом Шапіро-Уїлка групи порівняння мали нормальний розподіл. Статистичну значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента для незалежних виборок. Дані представлені у вигляді середніх арифметичних та стандартного відхилення.

Результати та їх обговорення. У щурів контрольної групи ішемія головного мозку з наступним одноденним реперфузійним періодом призвела до достовірного зниження в міокарді лівого шлуночка лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену на 7, 8, 16 % відповідно яке на на 12-ту добу експерименту змінлося достовірним зростанням цих показників на 17, 12, 8 % стосовно контролю (таблиця 1). Щодо раннього терміну спостереження зростання склало 25, 23, 28 % для низько-, високомолекулярних білків і колагену відповідно.

Таблиця 1
Вплив ішемії-реперфузії головного мозку на стан тканинного протеолізу в міокарді щурів із цукровим діабетом (M±m, n=11)

Група спостереження	Лізис низько-молекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	Лізис високо-молекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	Лізис колагену (мкг азоколу/ г тканини за год)
Контроль	23,71±0,52	22,75±0,46	9,22±0,22
Каротидна ішемія-реперфузія (20 хв/ 1 год)	22,13±0,28 p<0,005	20,86±0,39 p<0,001	7,76±0,25 p<0,001
Каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	27,74±0,46 p<0,001 p ₁ <0,001	25,59±0,39 p<0,001 p ₁ <0,001	9,97±0,13 p<0,05 p ₁ <0,001
Діабет	25,21±0,89	23,47±0,55	9,11±0,28
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (20хв/1 год)	23,68±0,31	22,15±0,22 p ₁ <0,02	8,39±0,20
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	26,85±0,38 p ₃ <0,001	24,15±0,33 p ₃ <0,001	9,85±0,13 p ₃ <0,001

Примітки: тут та в табл. 2 - вірогідність різниці порівняно з: p – контролем; p₁ – ішемією-реперфузією (20 хв/ 1 год) в контрольних тварин; p₂ – діабетом; p₃ – ішемією-реперфузією (20 хв/ 1 год) у тварин із діабетом

Таким чином, протеолітичні процеси змінюють свій характер протягом обраного нами терміну спостереження і носять довгостроковий характер, оскільки не нормалізуються до 12-ї доби.

У тварин із чотиримісячним ЦД достовірних змін вивчених показників не виявлено. На відміну від тварин контрольної групи, у щурів із ЦД у ранньому ішемічно-реперфузійному періоді виявлено лише зниження на 6 % лізису високомолекулярних білків (стосовно показників у щурів із ЦД). Достовірних змін інтенсивності тканинного протеолізу на

12-ту добу не виявлено, однак деяке зростання показників призвело до приросту на 13, 9 та 17 % лізису азоальбуміну, азоказеїну та азоколу стосовно цих же показників у ранні терміни спостереження.

Що стосується параметрів тканинного фібринолізу, у тварин без діабету після ішемії з одногодинною реперфузією нами виявлено зниження сумарної та ферментативної фібринолітичної активності на 10 та 13 % відповідно (таблиця 2).

Таблиця 2

Вплив ішемії-реперфузії головного мозку на стан тканинного фібринолізу в міокарді щурів із цукровим діабетом ($M \pm m$, $n=11$)

Група спостереження	Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)
Контроль	11,29±0,25	5,97±0,21	5,33±0,23
Ішемія-реперфузія головного мозку (20 хв/ 1 год)	10,15±0,17 $p < 0,001$	5,49±0,27	4,65±0,18 $p < 0,02$
Ішемія-реперфузія головного мозку (12 діб)	12,60±0,18 $p < 0,002$ $p_1 < 0,001$	6,72±0,18 $p < 0,04$ $p_1 < 0,006$	5,87±0,12 $p_1 < 0,001$
Діабет	12,05±0,35	5,63±0,19	6,42±0,24 $p < 0,005$
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку (20 хв/ 1 год)	12,13±0,14	6,46±0,21 $p_2 < 0,03$	5,67±0,15 $p_2 < 0,008$
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку (12 діб)	12,42±0,14 $p_3 < 0,04$	6,40±0,19 $p_2 < 0,03$	6,02±0,12 $p_3 < 0,05$

На 12-ту добу зросла неферментативна та сумарна фібринолітична активність (на 12 і 13 %) , а найбільш ефективна ферментативна – залишилася без змін. У даний термін спостереження порівняно з попереднім інтенсивність сумарного, неферментативного та ферментативного фібринолізу зросла на 24, 22, 26 %.

ЦД призвів до достовірного зростання на 20 % ферментативної складової. Однак за рахунок деякого зниження неферментативної сумарна залишилася без змін. У щурів із ЦД в ранні терміни ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку на 15 % зросла неферментативна складова та на 12 % знизилася фермен-

тативна, внаслідок чого сумарна фібринолітична активність залишилася без змін. На 12-ту добу спостереження стосовно показників за ЦД зросла на 14 % неферментативна фібринолітична активність, а стосовно більш раннього терміну спостереження – сумарна.

Таким чином, проведені дослідження показали, що як ранні, так і довготривалі зміни тканинної протео- та фібринолітичної активності у відповідь на ішемію-реперфузію головного мозку в міокарді щурів із ЦД суттєво обмежені порівняно з такими в щурів без порушень метаболізму. Враховуючи дані літератури про подібне знижене реагування за умов діабету в інших тканинах,

можна думати про виснаження резервів міокарда основним захворюванням, а виявлені зміни – вважати проявом діабетичної кардіоміопатії.

Висновки. 1. Ішемія головного мозку в щурів контрольної групи пригнічує тканинну протео- та фібринолітичну активність після односторонньої реперфузії і активує її – на 12-ту добу спостереження.

2. Цукровий діабет обмежує реакцію тканинної протео- та фібринолітичної активності на ішемічно-реперфузійне ушкодження головного мозку, особливо в пізній термін спостереження.

Перспективи подальших досліджень. Планується вивчення взаємозв'язків тканинної протеолітичної активності та окиснювальної модифікації білків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Скибо Г.Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга / Г.Н. Скибо // Патология. - 2004. - Т.1, №1. - С. 22-30.
2. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії / В.М.Магалис, А.О.Міхеев, Ю.С.Роговий [та ін.].- Чернівці, 2001.- 42 с.
3. Alexandrova A. Proteasome activity in experimental diabetes / A.Alexandrova, L.Petrov, M.Kirkova // Central Europ.J.Biol. - 2006. - Vol.1, №2. - P.289-298.
4. Van C.R., Twigg S.M. Fibrosis in diabetes complications: Pathogenic mechanisms and circulating and urinary markers // Vascular Health and Risk management. - 2008. -Vol.4, №3. - P.575-596.
5. Berry C. Coronary heart disease in patients with diabetes: parts I and II: recent advances in prevention, noninvasive management, and coronary revascularization / C.Berry,

- J.C.Tardif, M.G.Bourassa // J. Am. Coll. Cardiol. - 2007. - Vol. 49.- P. 631-656.
6. D'Armiento J. Matrix metalloproteinase disruption of the extracellular matrix and cardiac dysfunction / J.D'Armiento // Trends Cardiovasc. Med. - 2002. - Vol.12. - P. 97-101.
7. Diabetes mellitus induces decreased plasma fibrinolytic activity and increased tissue synthesis of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in the rat / A.Pandolfi, A.Giaccari, R.Polishuck [et al.] // Fibrinolysis and Proteolysis. - 2000. - Vol.14, №4. - P.261-267.
8. Early changes in serum markers of cardiac extra-cellular matrix turnover in patient with uncomplicated hypertension and type 11 diabetes / F. Alla, A. Kearney-Schwartz, A. Radauceanu [et al.] // Eur. J. Heart. Fail. - 2006. - Vol. 8. - P.147-153.
9. Effect of pioglitazone on cardiovascular outcome in diabetes and chronic kidney disease / C.A.Schneider, E.Ferrannini, R.DeFonzo [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. - 2008. - Vol.19. - P. 182-187.
10. Hyperglycemia Stimulates Coagulation, Whereas Hyperinsulinemia Impairs Fibrinolysis in Healthy Humans / M.E.Stegenga, N.S.Crabben, M.Levi [et al.] // Diabetes. - 2006. - Vol.55, №6. - P.1807-1812.
11. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes: a consensus statement from the American Diabetes Association / A.E.Kitabchi, G.E.Umpierrez, M.B.Murphy [et al.] // Diabetes. - 2006. - Vol.29, №12. - P.2739-2748.
12. Increased connective tissue growth factor relative to brain natriuretic peptide as a determinant of myocardial fibrosis / N. Koitabashi, M.Arai, S.Kogure [et al.] // Hypertension. - 2007. - Vol. 49. - P. 1120-1127.
13. Joslin's Diabetes Mellitus / [C.R. Kahn, C.W.Gordon, L.K.George et al.]-[14th ed.]. - Philadelphia.: Lippincott Williams & Wilkins, 2005. - 1224p.
14. Metalloproteinase -2 and -9 in diabetic and nondiabetic subjects during acute coronary syndromes / G. Derosa, A.F.Cicero, F.Scalise [et al.] // Endotelium. - 2007. - Vol. 14. - P. 45-51.
15. Nissen S.E. Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes / S.E. Nissen, K. Wolski // N. Engl. J. Med. - 2007. - Vol. 356. - P. 2457-2471.
16. Oxidative stress and fibrosis in incipient myocardial dysfunction in type 2 diabetic patient / F.Gonzales-Vilchez, J. Ayuela, M. Ares [et al.] // Int. J. Cardiol. - 2005. - Vol. 101. - P. 53-58.
17. The independent effect of type 2 diabetes mellitus on ischemic heart disease, stroke, and death / T. Almdal, H. Scharling, J.S. Jensen [et al.] // Arch.Intern.Med.- 2004.-№ 164.- P.1422-1426.

Гавалешко В.П. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОТЕО- И ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В МИОКАРДЕ КРЫС СО СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННЫМ ДИАБЕТОМ, ОСЛОЖНЕННЫМ НЕПОЛНОЙ ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ-РЕПЕРФУЗИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Резюме. Исследованы ранние и отсроченные эффекты ишемически-реперфузионного повреждения головного мозга на показатели фибрино- и протеолитической активности в миокарде крыс с сахарным диабетом. Показано, что у крыс контрольной группы ишемия головного мозга угнетает протео- и фибринолитическую активность в ткани миокарда после односторонней реперфузии и активизирует ее на 12-е сутки наблюдения. Сахарный диабет существенно ограничивает реакцию протео- и фибринолитической активности в миокарде на ишемически-реперфузионное повреждение головного мозга, особенно в поздний срок наблюдения.

Ключевые слова: сахарный диабет, ишемия-реперфузия головного мозга, фибринолиз, протеолиз, миокард

Gavaleshko V.P. THE DYNAMICS OF PROTEOLYTIC AND FIBRINOLYTIC ACTIVITY IN THE MYOCARDIUM OF RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS COMPLICATED BY INCOMPLETE GLOBAL ISCHEMIA-REPERFUSION OF THE BRAIN

Summary. The early and long-term effects of brain ischemia-reperfusion injury on the indices of fibrinolytic and proteolytic activity in the myocardium of rats with diabetes mellitus have been investigated. It is shown that in the myocardium of rats of the control group one hour cerebral ischemia reperfusion inhibits proteolysis and fibrinolytic activity in myocardial tissue and activates it on the 12th day of observation. Diabetes mellitus substantially limits the response of proteolytic and fibrinolytic activity in the myocardium to ischemia-reperfusion injury of the brain, especially in the later period of observation.

Keywords: diabetes mellitus, brain ischemia-reperfusion, fibrinolysis, proteolysis, myocardium

Рецензент: проф. Абрамов А.В.